

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Ireny Barnetové:**“Remodelace genomu během prvního buněčného dělení embryogeneze“**

Cílem předložené práce je charakterizace remodelační schopnosti oocyty, zjištění faktorů, které by mohly mít vliv na remodelaci zygoty a byly odpovědné za vývoj kvalitních embryí. Během oplození dochází ve spermiu, jejíž genom je vysoce kompaktní díky protaminům, k jejich výměně za histony a dochází následně k epigenetické remodelaci. Nejvíce studovaná je aktivní demethylace paternálního prvojádra.

Studium epigenetické remodelace je zcela nový přístup, který by mohl odhalit působení epigenetických faktorů na vývoj kvalitního embrya.

Předložená práce se pokouší vysvětlit rozpor ve výsledcích demethylace prvojádra (model prase) ve výsledcích různých autorů a to na základě prověření různých technik produkce embryí, faktorů spermie a kvality oocytů.

V předložené práci byly vybrané náročné laboratorní postupy, které Mgr. Barnetová zvládla a použila v jednotlivých částech práce pro produkci embryí, mezidruhově intracytoplasmatické injekce a detekci metylace.

Práce je členěná na stručný, ale výstižný literární úvod, členěný na dvě části (epigenetické remodelování a mezidruhově intracytoplasmatické injekce), cíle práce, komentář a diskuse k jednotlivým publikacím, včetně odeslaného manuskriptu, závěry, publikační odkazy (77 citací) a přiložených pět publikací.

Cíle práce jsou jasně formulované:

- .Určit vliv různých technik na přípravu embryí (IVF a ICSI) na výslednou epigenetickou remodelaci zygoty prasete.
- .Popsat remodelaci paternálního prvojádra v zygotách vytvořených metodou mezidruhově ICSI (ilCSI) a definovat podíl paternální složky ve výsledné epigenetické remodelaci.
- .Popsat vliv kvality oocytů na remodelační schopnost oocyty, porovnat remodelační schopnosti ovulovaných a *in vitro* maturovaných oocytů myší a prasete.

Výsledky jsou v práci diskutovány a stručně shrnuty v závěru.

- Autorka a spolupraconíci potvrdili, že ani jedna z metod k produkci embryí (IVF, ICSI) nemá vliv na výslednou remodelaci zygoty.
- Cytoplasma oocyty má zásadní vliv na remodelaci paternálního prvojádra.
- Navzdory rozdílu v aktivačních schopnostech oocytů (ovulované oocyty, oocyty maturované *in vitro*), epigenetické remodelační schopnosti jsou u obou skupin podobné.

K práci předkládám pár otázek a námětů k diskusi:

1. Jestliže cytoplasma oocyty má zásadní vliv na remodelaci paternálního prvojádra, jaké jsou rozdíly ve složení cytoplasmy oocytů různých organismů, a které faktory jsou za tento výsledek odpovědné?
2. Jakým způsobem by se v asistované reprodukci v praxi mohla využít „správná remodelace prvojader po oplození“ k získání kvalitních embryí?
3. Jakým způsobem by se mohla metoda iCSI použít pro diagnostiku spermií neplodného páru v lidské asistované reprodukci?
4. Jaký je osud publikace Barnettova et al., zaslané do Czech Journal Animal Science?

Předložená práce má vysokou vědeckou úroveň je nasměrována na „moderní téma“ vlivu epigenetických faktorů na expresi genů a následnou syntézu proteinů. Výsledky prokazují nejen pracovitost kandidátky, její schopnost orientovat se v problematice ale i schopnost získané poznatky analyzovat a dávat do souvislostí, jak potvrzují přiložené publikace. Práce odráží vysokou vědeckou úroveň pracoviště i odpovědné vedení školitele.

Předložená práce splňuje všechny náležitosti pro podání dizertační práce, proto ji doporučuji přijmout pro obhajobu doktorské disertace Mgr. Ireny Barnettové.

Praze 24.8.2011

Doc. RNDr. Jana Pěkníková, CSc